



# اثر سولفید هیدروژن (H<sub>2</sub>S) بر پارکینسونیسم القا شده توسط سم ۶-OHDA در موش صحرایی-آزمون روتارود

## The effect of H<sub>2</sub>S on parkinsonism induced by the administration of ۶-OHDA posion in rat-rotarod test



علوم پزشکی  
قزوین



منابع



اطلاعات  
تفضیلی



مجری و  
همکاران



صفحه نخست  
سامانه

چاپ  
صفحه

مجریان: هاشم حق دوست یزدی

کلمات کلیدی: پارکینسونیسم القا شده توسط سم ۶-هیدروکسی دوپامین- اثر سولفید هیدروژن- موش صحرایی



### اطلاعات کلی طرح

کد طرح	۱۴۰۰۲۳۱۱
عنوان فارسی طرح	اثر سولفید هیدروژن (H <sub>2</sub> S) بر پارکینسونیسم القا شده توسط سم ۶-OHDA در موش صحرایی-آزمون روتارود
عنوان لاتین طرح	The effect of H <sub>2</sub> S on parkinsonism induced by the administration of ۶-OHDA posion in rat-rotarod test
کلمات کلیدی	پارکینسونیسم القا شده توسط سم ۶-هیدروکسی دوپامین- اثر سولفید هیدروژن- موش صحرایی
نوع طرح	
نوع مطالعه	
مدت اجراء - روز	۷۰

ضرورت انجام تحقیق

بیماری پارکینسون یک بیماری نورودژنراتیو می باشد که پس از الزایمر شایع ترین اختلال نورودژنراتیو مرتبط با سن می باشد. این بیماری بوسیله از دست رفتن نورونهای دپامینرژیک مغز میانی و کاهش متعاقب دپامین در استریاتوم ایجاد می گردد. درمان با داروی لودپا (L-Dopa) کمبود دپامین در استریاتوم مغز و بدنبال آن بسیاری از علائم بیماری را برطرف می کند. لکن این دارو نمی تواند جلو مرگ نورون های دپامینرژیک و پیشرفت بیماری را بگیرد و درمان طولانی مدت با آن سبب تسریع مرگ نورون های دپامینرژیک بر اثر استرس اکسیداتیو می شود که منجر به بروز عوارض مخربی همچون دیس کینزیا می شود که سبب پایین آمدن کیفیت زندگی می گردد. تزریق سیستمیک (H<sub>2</sub>S) NaHS می تواند اثر ضد پارکینسونی داشته باشد، بر اساس متون گذشته مرگ نورون های دپامینرژیک در عرض چند روز بعد از تزریق سم

بدون mbf رخ میدهد ولی در آزمون های رفتاری دیده شده شدت علایم در هفته پنجم پس از تزریق بیشتر از هفته سوم است لذا ممکن است اثر سم ومرگ نوروں های دوپامینرژیک تا چند هفته پس از تزریق سم ادامه دارد،لذا در این تحقیق درمان با NaHS را تا پنج هفته پس از تزریق ادامه خواهیم داد

هدف کلی	اثر سولفید هیدروژن (H <sub>2</sub> S) بر پارکینسونیسم القا شده توسط سم ۶-OHDA در موش صحرایی-آزمون رو
خلاصه روش کار	۱-جراحی استرئوتاکسیک و تزریق سم ؟-هیدروکسی دوپامین ۲-درمان با هیدروژن سولفید تنها یا با گلی بن کلامید ۳ - انجام آزمون های رفتاری

### اطلاعات مجری و همکاران

نام و نام خانوادگی	سمت در طرح	نوع همکاری	درجه تحصیلی	پست الکترونیک
هاشم حق دوست یزدی	استاد راهنمای اول	استاد راهنما	دکتر - PHD	hhaghdooost@yahoo.com
محمد حسین اسماعیلی	استاد مشاور			esmail66@yahoo.com

### اطلاعات تفصیلی

عنوان	متن
چکیده طرح	
پیشینه طرح	
فهرست کلی فصول	
هدف از اجرا	اثر سولفید هیدروژن (H <sub>2</sub> S) بر پارکینسونیسم القا شده توسط سم ۶-OHDA در موش صحرایی-آزمون روتارود
فرضیات یا سوالات پژوهشی	۱-درمان طولانی مدت با هیدروژن سولفید سبب بهبود آزمون روتارود در موش های دریافت کننده سم ۶-OHDA می شود ۲-اثر هیدروژن سولفید وابسته به دوز بوده و دوز ۱۰۰ μmol/kg, body weight آن در کاهش علائم رفتاری موثرتر از دوز ۵۰ μmol/kg, body weight آن می باشد.
چه موسساتی می توانند از نتایج طرح استفاده نمایند؟	
در صورت ساخت دستگاه نظر صنعت و داوران	
کلید واژه های فارسی	پارکینسونیسم القا شده توسط سم ۶-هیدروکسی دوپامین- اثر سولفید هیدروژن- موش صحرایی
روش پژوهش و تکنیک های اجرایی	روش انجام این تحقیق شامل: ۱- جراحی استرئوتاکسیک و تزریق سم ۶-هیدروکسی دوپامین ۲- درمان با هیدروژن سولفید تنها یا همراه با گلین کلامید ۳- انجام آزمون های رفتاری ۴- اندازه گیری سطح دوپامین در ناحیه استریاتوم ۱- جراحی استرئوتاکسیک و تزریق سم ۶-OHDA: سم نوروتوکسیک ۶-۱۰-۱۵ (OHDA میکروگرم حل شده در سالین حاوی ۰/۲ درصد اسید اسکوربیک ) به وسیله جراحی استرئوتاکسیک به ناحیه دسته مغز جلویی میانی (MFB) تزریق می گردد. در این جراحی ابتدا حیوانات را با استفاده از کتامین/ زایلازین (۶/۶۰ mg/kg) بیهوش کرده و سپس در دستگاه استرئوتاکس قرار داده می شوند. در پوست سر یک برش طولی به اندازه ۲ سانتیمتر ایجاد شده و سطح استخوان اشکار می شود. سپس نقطه

برگما مشخص شده و با استفاده از دستگاه استرئوتاگس و به کمک اطلس پاکسینوز و واتسون ۱۳ محل مورد نظر تزریق نشانه گذاری می گردد. سپس سطح جمجمه با مته دندانپزشکی سوراخ گردیده و با استفاده از سرنگ هاملتون تزریق سم ۶-OHDA به درون ناحیه مورد نظر به اهستگی صورت می گیرد. سم ۶-OHDA سبب تخریب نورون های دپامینرژیک در جسم سیاه طرف تزریق شده و مدل پارکینسونی را ایجاد می نماید. ۲- درمان با هیدروژن سولفاید و یا سالین: تزریق بصورت درون صفاقی به گروه های مربوطه صورت خواهد گرفت. این تزریقات بصورت روزانه از ساعتی قبل از تزریق سم ۶-OHDA شروع خواهد شد و تا ۷ روز پس از آن ادامه خواهد یافت. ۳- آزمون های رفتاری: تزریق سم سبب تخریب نورون های دپامینرژیک جسم سیاه در همان طرف می گردد. علائم پارکینسون و شدت بیماری به وسیله ۳ آزمون رفتاری چرخش القاء شده به وسیله اپومرفین ، آزمون پیچش بدن بالارفته و روتارود اشکار می گردد. آزمون روتارود، آزمون روتارود توانایی اجرای فعالیت های حرکتی (motor performance) را مورد ارزیابی قرار می دهد. با کمک این آزمون هماهنگی حرکات، حفظ تعادل و مهمتر توانایی یادگیری حرکتی در حیوانات مورد ارزیابی قرار می گیرد. از این رو این آزمون روتارود، آزمون معتبر و قابل اعتمادی در بررسی اختلالات بخش هایی از سیستم عصبی که درگیر کنترل حرکات می باشند (مانند مخچه و بازال گانگلیا) می باشد. روش اجرای آن اصولا برگرفته از روش معرفی شده توسط ۱۵, hamm et al. می باشد. به طور خلاصه، دستگاه روتارود شامل یک چارچوب پلاستیکی می باشد که در آن میله ای استوانه ای با قابلیت چرخش در سرعت های مختلف تعبیه شده اند که حیوان می تواند بر روی آن قدم بزند. در این آزمایش سرعت چرخش میله های استوانه ای به گونه ای تنظیم می شود که در یک فاصله زمانی ۹۰ ثانیه ای از ۵ دور بر ثانیه به ۴۰ دور بر ثانیه برسد. مدت زمانی که حیوان می تواند بر روی میله ها قدم بزند معیاری از توانایی اجرای حرکتی حیوان می باشد. این آزمون در ۳ روز پشت سرهم هر روز ۲ بار با فاصله زمانی حداقل ۱ ساعت (مجموعا ۶ جلسه) انجام می شود. حیوانات سالم پس از چند جلسه به خوبی یاد می گیرند که بر روی میله ها در تمام مدت آزمون قدم زده، تعادل خود را حفظ کرده و از افتادن خود از دستگاه جلوگیری نمایند. از طرف دیگر حیوانات با اختلالات حرکتی مثلا حیوانات پارکینسونی و یا حیوانات مبتلا به آتاکسیا در انجام این آزمون ضعیف عمل کرده و اجرای آن را یا یاد نمی گیرند و یا دیر یاد می گیرند. اثرات درمان و یا پیش درمان های مختلف بر روی این بیماری ها در این آزمون اشکار خواهد شد.

دلایل ضرورت و توجیه انجام کار

بیماری پارکینسون یک بیماری نورودژنراتیو می باشد که پس از الزایمر شایع ترین اختلال نورودژنراتیو مرتبط با سن می باشد. این بیماری بوسیله از دست رفتن نورونهای دپامینرژیک مغز میانی و کاهش متعاقب دپامین در استریاتوم ایجاد می گردد. مطالعات صورت گرفته بر روی مدل های حیوانی نشان می دهند که اختلال در عملکرد کمپلکس I در زنجیره انتقال الکترون میتوکندریها از عوامل مهم ایجاد این بیماری می باشد. در فرایند انتقال الکترون در میتوکندریها اکسیدانت های قوی مانند رادیکالهای سوپراکسید و هیدروژن پراکسید به عنوان محصولات فرعی تولید می شوند. هیدروژن سولفاید (H<sub>2</sub>S) یک نوروترانسمیتر گازی درون زاد میباشد که در پستانداران بوسیله دوانزیم cystathionine b-synthase و

cystathionine c-lyase تولید می شود. این ماده از طریق فعال کردن گیرنده های NMDA در نورون ها سبب القاء تقویت طولانی مدت (LTP) شده، امواج کلسیمی در استروسیت ها ایجاد کرده و منجر به افزایش سطح کلسیم در میکروگلیا ها می شود. نقشی برای این ماده در بیماری های نورودژنراتیو نیز گزارش شده است. نشان داده شده است که H<sub>2</sub>S التهاب عصبی القاء شده بوسیله لیپوپلی ساکاریدها و امیلوئید بتا را مهار می کند . کیمورا و کیمورا در سال ۲۰۰۴ گزارش دادند که گاز H<sub>2</sub>S نورون ها را در

برابر استرس اکسیداتیو محافظت می کند . کامات و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که گاز H<sub>2</sub>S نورودژنراسیون و اختلالات نوروواسکولار القاء شده بوسیله تجویز درون مغزی هموسیستئین در مغز موش های سوری را کاهش میدهد . در مطالعه ای دیگر لو و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که تزریق سیستمیک NaHS (دهنده H<sub>2</sub>S) مرگ نورون های دپامینرژیک بر اثر تجویز سم (MPTP (۱-methyl-۴-phenylpyridinium را در موش های سوری کاهش می دهد . در همین ارتباط کیدا و همکاران ۲۰۱۱ گزارش کردند که تنفس سولفید هیدروژن از مرگ نورون های دپامینرژیک و اختلالات حرکتی بر اثر تجویز سم MPTP جلوگیری می کنند. در پژوهشی که اخیرا گروه تحقیقاتی نگارنده به انجام رسانده است مشخص گردید که تزریق سیستمیک NaHS می تواند اثرات ضد پارکینسونی در مدل حیوانی داشته باشد. لکن در این تحقیق ما تنها ۷ روز NaHS تزریق کردیم زیرا بر اساس متون تصور می شد که مرگ نورون های دپامینرژیک در عرض چند روز پس از تزریق سم بدرون ناحیه MFB رخ می دهد. لکن پس از ازمون های رفتاری متوجه شدیم که شدت علائم پارکینسونیسم در هفته پنجم پس از تزریق سم به میزان کاملا معنی داری شدیدتر از این علائم در هفته سوم می باشد. لذا به نظر می رسد که اثر سم و مرگ نورون های دپامینرژیک ممکن است تا چند هفته پس از تزریق سم ادامه داشته باشد. لذا در این تحقیق مدت درمان با NaHS را تا ۵ هفته پس از تزریق سم ادامه خواهیم داد.

کلید واژه های فارسی بازننگری شده	
فهرست منابع و مراجع علمی داخلی	
فهرست منابع و مراجع علمی خارجی	
خلاصه نتیجه اجرای طرح	
سابقه علمی طرح و پژوهش های انجام شده با ذکر مأخذ به ویژه در ایران	
خلاصه طرح طبق اهداف پیش بینی شده	
WhatRequirementsAreMet	
ملاحظات گروه	
ملاحظات ناظر	
HomeAddress	
WorkPlace	
جامعه مورد مطالعه و روش نمونه گیری	جامعه مورد مطالعه موشهای صحرایی نر از نژاد ویستار در محدوده وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم می باشند. که سم ۶- هیدروکسی دپامین را برای ایجاد مدل پارکینسونی دریافت می دارند.

بیماری پارکینسون یک بیماری نورودژنراتیو می باشد که پس از الزایمر شایع ترین اختلال نورودژنراتیو مرتبط با سن می باشد. این بیماری بوسیله از دست رفتن نورونهای دپامینرژیک مغز میانی و کاهش متعاقب دپامین در استریاتوم ایجاد می گردد. پاتوفیزیولوژی بیماری پارکینسون به خوبی شناسایی نشده است لکن مشخص گردیده است که استرس اکسیداتیو و اختلال در عملکرد میتوکندری ها نقش مهمی در آن ایفا می کنند. مطالعات صورت گرفته بر روی مدل های حیوانی نشان می دهند که اختلال در عملکرد کمپلکس I در زنجیره انتقال الکترون میتوکندریها از عوامل مهم ایجاد این بیماری می باشد. در فرایند انتقال الکترون در میتوکندریها اکسیدانت های قوی مانند رادیکالهای سوپراکسید و هیدروژن پراکسید به عنوان محصولات فرعی تولید می شوند. مهار کمپلکس I سبب افزایش

بیان مسأله و بررسی متون

تولید سوپراکسید و رادیکالهای آزاد اکسیژن (ROS) می گردد. رادیکالهای آزاد با هدف قرار دادن خود زنجیره انتقال الکترون منجر به آسیب میتوکندریایی بیشتر و تولید بیشتر ROS می گردند. نورون های دپامینرژیک بویژه مستعد تولید ROS می باشند زیرا متابولیسم دپامین تولید هیدروژن پراکسید و رادیکالهای سوپراکسید می نماید. علائم این بیماری شامل برادی کینزیا، رژییدی، صورت ماسکی شکل، اختلال در راه رفتن و کنترل وضعیت بدن می باشد. درمان با داروی لودپا (L-Dopa) کمبود دپامین در استریاتوم مغز و بدنبال آن بسیاری از علائم بیماری را برطرف می کند. لکن این دارو نمی تواند جلو مرگ نورون های دپامینرژیک و پیشرفت بیماری را بگیرد و درمان طولانی مدت با آن سبب تسریع مرگ نورون های دپامینرژیک بر اثر استرس اکسیداتیو می شود که منجر به بروز عوارض مخربی همچون دیس کینزیا می شود که سبب پایین آمدن کیفیت زندگی می گردد. از این رو در حال حاضر تحقیقات به سمت شناخت روش های نوین برای جلوگیری از مرگ نورون های دپامینرژیک و کند کردن پیشرفت بیماری می باشد. ۴-۱ هیدروژن سولفاید (H<sub>2</sub>S) یک نوروترانسمیتر گازی درون زاد میباشد که در پستانداران بوسیله دوانزیم cystathionine b-synthase و cystathionine c-lyase تولید می شود. نشان داده شده است که این ماده قلب را در برابر آسیب ایسکمیک محافظت کرده، تون عروقی و آزاد شدن انسولین را تنظیم می کند و تکثیر سلولی و اپوپتوز را تعدیل می نماید ۵. همچنین اعمال فیزیولوژیک مهمی برای آن در CNS پیشنهاد شده است. این ماده از طریق فعال کردن گیرنده های NMDA در نورون ها سبب القاء تقویت طولانی مدت (LTP) شده، امواج کلسیمی در استروسیت ها ایجاد کرده و منجر به افزایش سطح کلسیم در میکروگلیا ها می شود. نقشی برای این ماده در بیماری های نورودژنراتیو نیز گزارش شده است. نشان داده شده است که H<sub>2</sub>S التهاب عصبی القاء شده بوسیله لیپوپلی ساکاریدها و امیلوئید بتا را مهار می کند ۶ و ۷. کیمورا و کیمورا در سال ۲۰۰۴ گزارش دادند که گاز H<sub>2</sub>S نورون ها را در برابر استرس اکسیداتیو محافظت می کند ۸. کامات و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که گاز H<sub>2</sub>S نورودژنراسیون و اختلالات نوروواسکولار القاء شده بوسیله تجویز درون مغزی هموسیستئین در مغز موش های سوری را کاهش میدهد ۹. در مطالعه ای دیگر لو و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که تزریق سیستمیک NaHS (دهنده H<sub>2</sub>S) مرگ نورون های دپامینرژیک بر اثر تجویز سم MPTP (۱-methyl-4-phenylpyridinium) را در موش های سوری کاهش می دهد ۵. در همین ارتباط کیدا و همکاران ۲۰۱۱ گزارش کردند که تنفس سولفید هیدروژن از مرگ نورون های دپامینرژیک و اختلالات حرکتی بر اثر تجویز سم MPTP جلوگیری می کند ۱۰. در مطالعه ای که توسط Hu و همکاران در سال های ۲۰۱۰ و ۲۰۱۳ انجام گرفت مشخص گردید که تزریق سیستمیک NaHS و یا ترکیب ACS<sub>8</sub> (ترکیبی مشتق از ال دوبا که سبب آزاد سازی هیدروژن سولفاید میشود) از ایجاد بیماری پارکینسون القاء شده توسط روتنون جلوگیری کرده و سلول های رده SH-SY5Y را در برابر آسیب ناشی از تزریق ۶-OHDA و استرس اکسیداتیو محافظت می کند. همچنین این محققین نشان دادند که تجویز این دو ماده به موش های پارکینسونی شده توسط سم ۶-OHDA سبب معکوس شدن اختلالات حرکتی و مرگ نورون های دپامینرژیک می شود ۶ و ۷. در پژوهشی که اخیرا گروه تحقیقاتی نگارنده به انجام رسانده است مشخص گردید که تزریق سیستمیک NaHS می تواند اثرات ضد پارکینسونی در مدل حیوانی داشته باشد. لکن در این تحقیق ما تنها ۷ روز NaHS تزریق کردیم زیرا بر اساس متون تصور می شد که مرگ نورون های دپامینرژیک در عرض چند روز پس از تزریق سم بدرون ناحیه MFB رخ می دهد. لکن پس از آزمون های رفتاری متوجه شدیم که شدت علائم پارکینسونیسم در هفته پنجم پس از تزریق سم به میزان کاملا معنی داری شدیدتر از این علائم در هفته سوم

می باشد. لذا به نظر می رسد که اثر سم و مرگ نورون های دپامینرژیک ممکن است تا چند هفته پس از تزریق سم ادامه داشته باشد. لذا در این تحقیق مدت درمان با NaHS را تا ۵ هفته پس از تزریق سم ادامه خواهیم داد.



## منابع

- 1 Dauer W, Przedborski S. Parkinson's Disease: Mechanisms and Models. *Neuron* 2003; 39: 889–909
- 2 Przedborski S. Pathogenesis of nigral cell death in Parkinson's disease. *Parkinsonism and Related Disorders* 2005; 11: S3–S7
- 3 Tsang A.H.K and Chung K.K.K. Oxidative and nitrosative stress in Parkinson's disease. *Biochimica et Biophysica Acta* 2009; 1792: 643–650
- 4 Wang XJ, Xu JX. Possible involvement of Ca<sup>2+</sup> signaling in rotenone-induced apoptosis in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Neurosci Lett*, 2005; 376:127–132
- 5 Lu M, Zhao FF, Tang JJ, Su CJ, Fan Y, Ding JH, Bian JS, Hu G. The neuroprotection of hydrogen sulfide against MPTP-induced dopaminergic neuron degeneration involves uncoupling protein 2 rather than ATP-sensitive potassium channels. *Antioxid Redox Signal*. 2012 Sep 15;17(6):849-59. doi: 10.1089/ars.2011.4507. Epub 2012 Apr 20
- 6 Hu LF, Lu M, Tiong CX, Dawe GS, Hu G, Bian JS. Neuroprotective effects of hydrogen sulfide on Parkinson's disease rat models. *Aging Cell*. 2010 Apr;9(2):135-46. doi: 10.1111/j.1474-9726.2009.00543.x. Epub 2009 Dec 23
- 7 Xie L, Hu LF, Teo XQ, Tiong CX, Tazzari V, Sparatore A, Del Soldato P, Dawe GS, Bian JS. Therapeutic effect of hydrogen sulfide-releasing L-Dopa derivative ACS84 on 6-OHDA-induced Parkinson's disease rat model. *PLoS One*. 2013;8(4):e60200. doi: 10.1371/journal.pone.0060200. Epub 2013 Apr 3
- 8 Kimura Y, Kimura H. Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress. *FASEB J*. 2004 Jul;18(10):1165-7. Epub 2004 May 20
- 9 Kamat PK1, Kalani A, Givvimani S, Sathnur PB, Tyagi SC, Tyagi N. Hydrogen sulfide attenuates neurodegeneration and neurovascular dysfunction induced by intracerebral-administered homocysteine in mice. *Neuroscience*. 2013 Nov 12;252:302-19. doi: 10.1016/j.neuroscience.2013.07.051. Epub 2013 Jul 31
- 10 Kida K1, Yamada M, Tokuda K, Marutani E, Kakinohana M, Kaneki M, Ichinose F. Inhaled hydrogen sulfide prevents neurodegeneration and movement disorder in a mouse model of Parkinson's disease. *Antioxid Redox Signal*. 2011 Jul 15;15(2):343-52. doi: 10.1089/ars.2010.3671. Epub 2011 Apr 5
- 11 Fujita K, Yamafuji M, Nakabeppu Y, Noda M. Therapeutic approach to neurodegenerative diseases by medical gases: focusing on redox signaling and related antioxidant enzymes. *Oxid Med Cell Longev*. 2012 ;:324256
- 12 Zhou CF, Tang XQ. Hydrogen sulfide and nervous system regulation. *Chin Med J (Engl)*. 2011, 124 (21):3576-82. Review
- 13 Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 6th ed. San Diego, CA: Academic Press; 2007

- Borlongan CV, Sanberg PR. Elevated Body Swing Test: A New -14  
Behavioral Parameter for Rats with 6-Hydroxydopamine-Induced  
Hemiparkinsonism. J Neuroscience 1995, 15(7): 5372-5378
- Hamm RJ, Pike BR, O'Dell DM, Lyeth BG, Jenkins LW. The rotarod -15  
test: an evaluation of its effectiveness in assessing motor deficits following  
.traumatic brain injury. J Neurotrauma. 1994 Apr;11(2):187-96
- Andereggen L. Meyer M. Guzman R. Ducray A.D. Widmer H.R. -16  
Effects of GDNF pretreatment on function and survival of transplanted  
fetal ventral mesencephalic cells in the 6-OHDA rat model of Parkinson's  
disease. B R A I N R E S E A R C H 1 2 7 6 ( 2 0 0 9 ) 3 9 – 4 9
- Roghani M, Behzadi G. Neuroprotective effect of vitamin E on the -17  
early model of Parkinson's disease in rat: behavioral and histochemical  
evidence. Brain Res. 2001 Feb 16;892(1):211-7
-